



هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۹-۱۸ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

بررسی تاثیر بیوپرایمینگ بر مولفه‌های رشد گیاهچه یونجه (*Medicago sativa* L.)

الهام علی‌جعفری^۱، مهدی معمری^{۲*} و معراج شری^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مرتعداری، دانشگاه محقق اردبیلی

۲* - استادیار دانشگاه محقق اردبیلی

* نویسنده مسئول: moameri@uma.ac.ir

۳- استادیار دانشگاه محقق اردبیلی

چکیده

به منظور بررسی تاثیر ریز موجودات مفید (EM) بر مولفه‌های رشد و جوانه‌زنی گیاه *Medicago sativa*، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل EM یک و دو درصد بودند. به منظور بررسی تاثیر تیمارهای مورد نظر بر خصوصیات جوانه‌زنی و رویشی *M. sativa*، شاخص‌های ضریب آلومتری، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر گیاهچه، وزن خشک گیاهچه، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه و محتوی آب بافتی گیاهچه محاسبه شد. نتایج نشان داد اثر تیمارها بر درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه، ضریب آلومتری، وزن تر گیاهچه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌داری بود ($p < 0.01$). در حالی که اثر این تیمارها بر وزن خشک گیاهچه و محتوی آب بافتی گیاهچه معنی‌دار نبود. نتایج این مطالعه میتواند در آماده‌سازی بذور یونجه برای کشت در طرح‌های اصلاح مرتع مفید باشد. کلمات کلیدی: *Medicago sativa* L.، ریز موجودات مفید، جوانه‌زنی.

مقدمه

توسعه اقتصادی هر کشوری در گرو برخورداری از منابع طبیعی سالم و پایدار است. از بین انواع منابع طبیعی، مراتع با داشتن وسعتی معادل ۴۳ درصد از خشکی‌های سطح زمین و برخورداری از پوشش‌های متنوع گیاهان مرتعی، کارکردهای متنوعی را داشته و نقش به‌سزایی در حفظ منابع آب، جلوگیری از ایجاد سیلاب و کنترل فرسایش و رسوب دارند (رئیس، ۲۰۰۶؛ پارهکار، ۲۰۱۳). برخی محدودیت‌ها در مناطق نیمه‌خشک، خشک و بیابانی از قبیل کمبود یا عدم بارندگی مؤثر، توزیع نامناسب باران، وزش بادهای شدید و داغ، سست و ناپایدار بودن خاک‌ها به علت فقدان یا کمبود مواد آلی، شور و قلیایی بودن خاک‌ها، حساس بودن خاک در مقابل بهره برداری از پوشش گیاهی از طریق چرای بی رویه دام، همگی عوامل بازدارندای هستند که باعث می‌شوند برای حفظ گیاهان به اقداماتی برای تأمین و نگه داشتن رطوبت قابل استفاده گیاه نیاز باشد که تأمین این موارد در بیشتر موارد مشکل و پرهزینه و یا غیرممکن است. در این مناطق باید از گیاهانی برای احیاء و اصلاح مراتع استفاده شود که با داشتن ریشه‌های عمیق، بتوانند در مقابل خشکی مقاومت کنند و آب مورد



نیاز خود را از اعماق زمین دریافت نمایند (کردوانی، ۱۳۸۹). کشت گیاهان در زمین‌های با حاصل‌خیزی کم و نیز در معرض انواع تنش‌های محیطی مانند کم‌آبی، شوری و دماهای بالا و پایین با مشکلات فراوانی روبه‌رو است که عمده‌ترین آنها مربوط به جوانه‌زنی و استقرار مناسب محصول در عرصه است (تولفیزادگان و همکاران، ۲۰۰۹). یکی از روشهای مورد استفاده در این زمینه استفاده از پرایمینگ است. پرایمینگ فناوری است که به واسطه آن بذرها پیش از قرار گرفتن در بستر کشت از لحاظ فیزیولوژیکی و بیولوژیکی، آمادگی جوانه‌زنی را به دست می‌آورند. این امر سبب تغییرات زیستی و فیزیولوژیکی زیادی در بذرها و همچنین گیاه حاصل از آن می‌گردد، به طوری که نتیجه آن جوانه‌زنی بهتر و استقرار مناسب گیاهچه است (اشرف و فولاد، ۲۰۰۵). در این میان استفاده از ریزجانداران مفید (EM) برای پرایمینگ بذر، بخصوص اگر ریزجانداران مورد استفاده به مدت طولانی در ریزوسفر ریشه گیاه ماندگار بوده و به مدت طولانی به سلامتی یا رشد گیاه یاری رساند، می‌تواند کمک بیشتری به استقرار گیاه کند (بننت و ویس، ۲۰۰۸). اوله و ویلیامز (۲۰۱۳) گزارش کردند که EM می‌تواند کیفیت و عملکرد گیاهان را بهبود بخشد و با کاهش شیوع آفات و بیماری‌ها و محافظت در مقابل علف‌های هرز، به این ترتیب به کشاورزی پایدار کمک می‌شود. در روش بیوپرایمینگ یا پیش‌تیمار زیستی، از ریزجانداران مفید و عوامل زیستی مانند قارچ‌ها (از جمله میکوریزا و تریکودرما) و باکتری‌های محرک رشد گیاهی استفاده می‌گردد که می‌توانند سبب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی به دلیل تحریک فعالیت‌های متابولیکی درون جنین شود. راج و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که بیوپرایمینگ بذر ارزن با سویه‌های سودوموناس به افزایش رشد و مقاومت گیاه در برابر بیماری کمک نمود. یونجه (*Medicago sativa L.*) از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای بومی ایران است که در شرایط متنوع آب و هوایی می‌روید. یونجه علاوه بر این که علوفه‌ای با کیفیت بالا تولید می‌کند اثر مثبتی بر خصوصیات خاک نیز می‌گذارد. بنابراین برای احیاء و اصلاح مراتع و همچنین احداث چراگاه‌های دست‌کاشت می‌توان از این گونه استفاده کرد.

مواد و روش

برای بررسی تاثیر بیوپرایمینگ بذر با ریزموجودات مفید (EM) بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه یونجه آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در زمستان ۱۳۹۵ اجراء شد. قبل از شروع آزمایش، بذرها و پتری دیش‌ها با استفاده از محلول هیپوکلرید سدیم ۲۰ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ریز موجودات مفید در دو سطح ۱ و ۲ درصد بودند. برای انجام عمل پرایمینگ، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در درون محلول‌های تهیه‌شده قرار گرفتند. سپس مجدداً با آب مقطر شستشو داده شدند و بذرها تیمار شده برای رسیدن به وزن اولیه در دمای اتاق و شرایط تاریکی خشک شدند



هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۹-۱۸ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

تا فرآیند پرایمینگ پایان یابد. سپس یک لایه کاغذ واتمن به عنوان بستر کشت داخل پتری دیش‌ها قرار گرفتند. در گام بعد، درون هر پتری دیش، ۲۵ عدد بذر گونه *Medicago sativa* (بذور پرایم شده و پرایم نشده) بر اساس طرح آزمایشی، با پراکنش یکنواخت در ۴ تکرار قرار داده شد. آبیاری پتری دیش‌ها با استفاده از آب مقطر انجام شد و تا پایان دوره آزمایش این ظروف مرطوب نگه داشته شدند.

دو روز بعد از ظهور ریشه‌چه شمارش گیاهچه‌ها و اندازه‌گیری‌های موردنظر شروع شدند. بذرهایی جوانه‌زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آنها دو میلی متر یا بیشتر بود (کایا و روز^۱، ۲۰۰۸). در پایان روز دهم شمارش بذرهایی جوانه‌زده در هر تیمار به عدد ثابت رسیدند. سپس درصد و سرعت جوانه‌زنی با استفاده از روابط ۱ و ۲ محاسبه شدند. طول ساقه‌چه از یقه تا جوانه انتهایی و طول ریشه‌چه از یقه تا نوک ریشه اصلی بر حسب میلی متر با خط‌کش دقیق اندازه‌گیری شد. همچنین، وزن تر ریشه‌چه و اندام هوایی و وزن خشک گیاه بعد از خشک شدن نمونه‌ها در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت (معمری و همکاران، ۱۳۹۴؛ معمری و همکاران، ۲۰۱۸) با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند. سپس شاخص‌هایی همچون ضریب آلومتری (AC)، سرعت جوانه‌زنی (GV)، درصد جوانه‌زنی (GP)، شاخص بنیه بذر (VI) و محتوی آب بافتی گیاهچه (TWC) محاسبه شدند (ایستا^۷، ۲۰۰۵).

$$GP = \sum(N_i/T_i) \times 100 \quad \text{رابطه ۱:}$$

$$GV = \sum(N_i/D_i) \times 100 \quad \text{رابطه ۲:}$$

$$AC = \frac{\text{میانگین وزن خشک ریشه چه}}{\text{میانگین وزن خشک ساقه چه}} \quad \text{رابطه ۳:}$$

$$TWC = \frac{(ww-wd)}{ww} \times 100 \quad \text{رابطه ۴:}$$

$$VI = (\sum RI + \sum Shl) \times GP \quad \text{رابطه ۵:}$$

GV: سرعت جوانه‌زنی

GP: درصد جوانه‌زنی

n_i = تعداد بذرهایی جوانه‌زده در روز شمارش

N_i = مجموع بذرهایی جوانه‌زده در آخرین روز شمارش

T_i = تعداد کل بذرها

D_i = روز شمارش

ww: وزن تر گیاهچه

wd: وزن خشک ریشه‌چه

Shl: طول ساقه چه

RI: طول ریشه‌چه

TWC: محتوی آب بافتی گیاهچه

VI: شاخص بنیه بذر

نتایج

^۱ Kaia & Roz

^۲ - Allometric coefficient

^۳ - Velocity germination

^۴ - Germination percent

^۵ - Vigor index

^۶ Tissue water content

^۷ - ISTA



هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

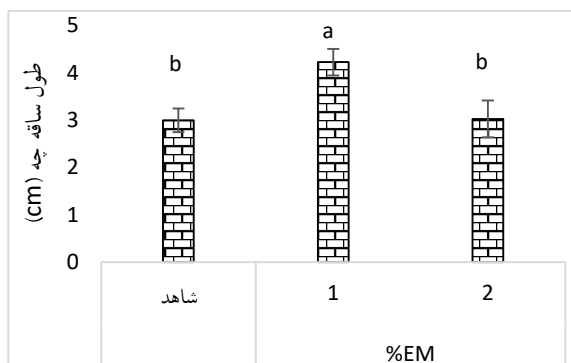
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر سطوح تیمار ریزموجودات مفید بر وزن تر گیاهچه، طول ساقهچه، طول ریشهچه، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاه و ضریب آلومتري در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌داری شد. در حالی که این تیمارها بر وزن خشک گیاهچه و محتوی بافتی گیاهچه اثر معنی‌داری نداشتند (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر رشد و جوانه‌زنی *M. sativa*

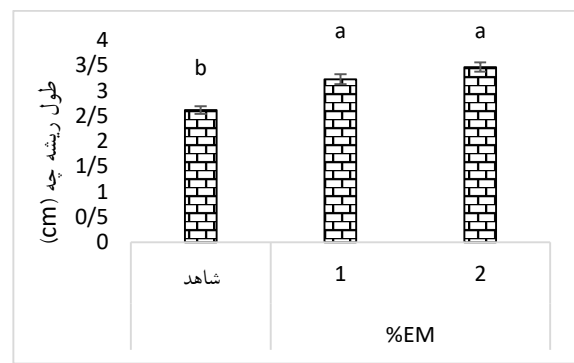
منابع تغییرات	df	میانگین مربعات	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن تر گیاهچه	وزن خشک گیاهچه	سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	شاخص بنیه گیاهچه	ضریب آلومتري	محتوی بافتی گیاهچه
تیمار	۲	۷۶۶/۰ ^{***}	۱/۹۶۹ ^{***}	۱۲۴۲۹۳/۵ ^{***}	۱۵۳/۵ ^{ns}	۳۳/۱ ^{***}	۸۰۱/۳ ^{**}	۴۷۶۵۸/۴ ^{***}	۰/۱۸ ^{**}	۱۷۱/۵ ^{ns}	
خطای آزمایش	۹	۰/۰۳۲	۰/۳۹	۲۰۶۲۶/۸	۱۰۳/۰۵	۵/۲	۷۷/۳	۶۷۵۰/۷	۰/۰۳۵	۱۸۷/۳	

***: معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، **: معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، ns: عدم معنی‌داری

نتایج مقایسه میانگین حاصل از آزمون دانکن در شکل ۱ تا ۷ نشان داده شده است. همانطور که در نمودارها مشاهده می‌شود، بیشترین مقدار طول ساقه‌چه، وزن تر گیاهچه و درصد جوانه‌زنی در تیمار EM یک درصد (شکل ۲، ۳ و ۶) و بیشترین مقدار طول ریشه‌چه، ضریب آلومتري، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه گیاهچه در تیمار EM دو درصد مشاهده شد (شکل ۱، ۴، ۵ و ۷).



شکل ۲: نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار مورد مطالعه بر طول ساقه‌چه با استفاده از آزمون دانکن

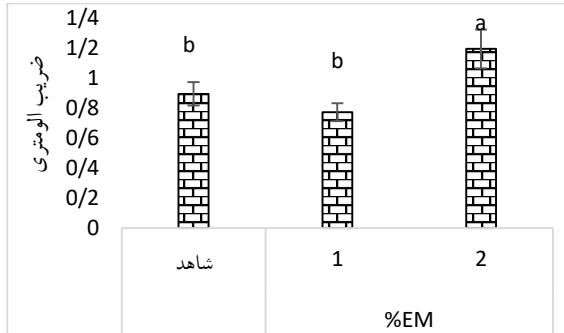


شکل ۱: نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار مورد مطالعه بر طول ریشه‌چه با استفاده از آزمون دانکن

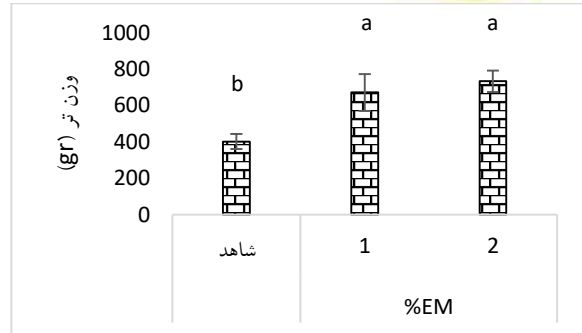


هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

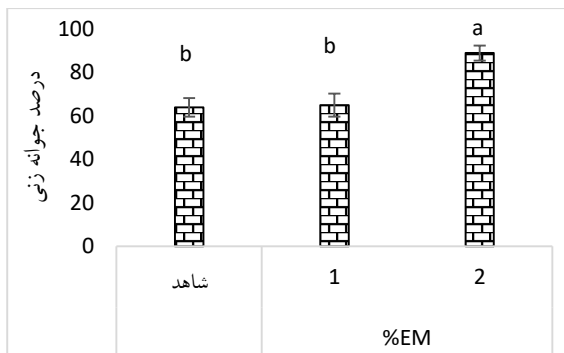
۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷



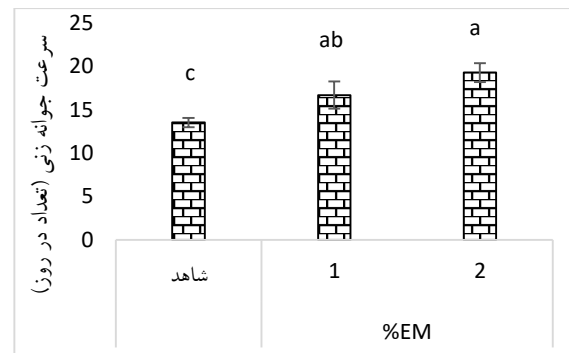
شکل ۴: نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار مورد مطالعه بر ضریب آلودگی با استفاده از آزمون دانکن



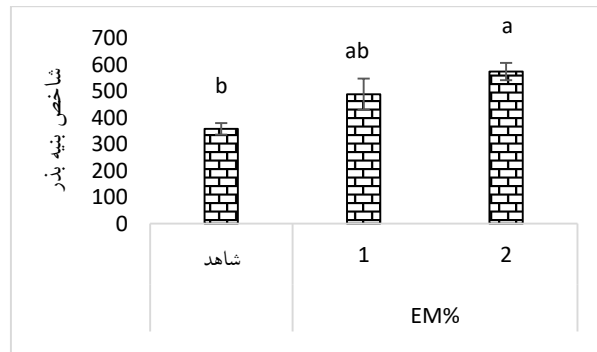
شکل ۳: نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار مورد مطالعه بر وزن تر با استفاده از آزمون دانکن



شکل ۶: نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار مورد مطالعه بر درصد جوانه زنی با استفاده از آزمون دانکن



شکل ۵: نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار مورد مطالعه بر سرعت جوانه زنی با استفاده از آزمون دانکن



شکل ۷: نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای مورد مطالعه بر شاخص بنيه با استفاده از آزمون دانکن

بحث و نتیجه گیری

نتایج این بررسی نشان داد که بیشترین مقدار شاخص‌های طول ریشه چه (۳/۴۶ سانتی‌متر)، ضریب آلودگی (۵۷۴) درصد جوانه‌زنی (۸۹ درصد)، سرعت جوانه‌زنی (۱۹/۲۶ تعداد در روز) و شاخص بنيه گیاهچه (۱/۱۹) در تیمار EM دو درصد اتفاق افتاد. وزن تر گیاهچه (۲۰۳ میلی‌گرم) و طول ساقه چه (۴/۲۲ سانتی‌متر) در تیمار EM یک درصد مشاهده شد. بنابراین طی نتایج حاصل از این آزمایش مشخص شد که EM در هر دو غلظت بر مولفه‌های رشد و جوانه‌زنی *M*.



هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۹-۱۸ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

sativa تاثیر مثبت داشت. ریزموجودات مفید علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر اصلی پرمصرف و ریزمغذی مورد نیاز گیاه، با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه و همچنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف و انواع آنتی‌بیوتیک، موجب رشد و توسعه ریشه و اندام هوایی شده که این مسئله سبب تولید اسیمیلات بیشتر و انتقال آنها به سایر اندام‌های گیاه می‌شوند (هان و لی، ۲۰۰۶). شریفی و خاوازی (۱۳۹۰) در تحقیق خود نشان دادند که پرایمینگ بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه، شاخص‌های جوانه‌زنی را افزایش داد. بذرهای تلقیح یافته با باکتری آزوسپریلوم از افزایش در طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه بیشتری در مقایسه با تلقیح با ازتوباکتر و عدم تلقیح برخوردار بودند. ترکیبی از باکتری‌های اسید لاکتیک و فتوستتری، اکتنومیست‌ها، مخمرها و سایر موجودات زنده از جمله قارچ‌های تخمیری در زمره ریزموجودات مفید (EM) قرار می‌گیرد. این موجودات روی کیفیت خاک، رشد گیاه، عملکرد محصول و کیفیت آن مؤثرند و باعث افزایش کارایی گیاه می‌شوند (گیرونا و همکاران، ۱۹۹۳). کاک ماک و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که تلقیح بذرهای جو با باکتری‌های تحریک کننده رشد گیاه، موجب افزایش طول و وزن ریشه‌های جو گردید. آنان افزایش وزن ریشه جو در واکنش به تلقیح با برخی باکتری‌ها را در مقایسه با تیمار شاهد، بیش از ۳۲ درصد و وزن اندام‌های هوایی بواسطه تلقیح با باکتری‌ها را ۲۸/۸ تا ۴۵/۲ درصد بسته به نوع باکتری گزارش نمودند. به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که استفاده از ریزموجودات مفید می‌تواند برای تیمار کردن بذر و تسریع رشد گیاهچه یونجه در عملیات اصلاح مراتع و احداث چراگاه‌های دست‌کاشت مرتعی استفاده شود.

منابع

۱. سیدشریفی، ر. و ک. خارزای. ۱۳۹۰. تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت (*Zea mays L.*). بوم‌شناسی کشاورزی، ۳(۴): ۵۰۶-۵۱۳.
۲. کردوانی، پ. ۱۳۸۹. مراتع، مسائل و راه‌حل‌های آن در ایران. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۷۵ صفحه.
۳. معمری، م.، جعفری، ع.، طویلی، ب.، متشع زاده و م.ع. زارع چاهوکی. ۱۳۹۴. ارزیابی پتانسیل گیاهان مرتعی برای گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به سرب و روی (مطالعه موردی: اراضی مرتعی اطراف شرکت سرب و روی زنجان). ۲۹: ۴۲-۲۹.
۴. Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2005. Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination growth and crop yield under saline and none-saline conditions. *Advances in Agronomy*, 88: 223-271.
۵. Bennett, A.J. and Whipps, J.M. 2008. Dual application of beneficial micro-organisms to seed during drum priming. *Applied Soil Ecology*, 38:83-89.
۶. Cakmakci, R., Erat, M., Erdoman, U.G., and Donmez, M.F. 2007. The influence of PGPR on growth parameters, antioxidant and pentose phosphate oxidative cycle enzymes in wheat and spinach plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170: 288-295.
۷. Girona J., Marsal J., Cohen M., Mata M., & Miravete, C. 1993. Physiological and yield response of almond (*Prunus dulcis L.*) to different irrigation regimes. *Acta Horticulture*, 335: 389-398.
۸. Han, H.S. and Lee, K.D. 2006. Effect of inoculate on with phosphate and potassium co-in solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant, Soil and Environment*.52:130-136.



۹. Moameri, M., Jafari, M., Tavili, A., Zare Chahouki, M.A., Motasharezadeh, B. and Madrid Diaz, F. 2018. Investigating lead and zinc uptake and accumulation by *Stipa hohenackeriana* trin and rupr. In field and pot Experiments. *Biosci. J.*, 34(1):138-150.
۱۰. Olle, M. & Williams, H. 2013. Effective microorganisms and their influence on vegetable production a review. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 88 (4) 380-386.
۱۱. Porehkar, A., Behnam, N. and Shokrabadi, M. 2013. An investigation survey on MPSIAC Model to predict sediment yeilad in Iran. *Research Journal of Environment and Earth Sciences*, 5:324-349.
۱۲. Raiesi, F. 2006. Carbon and N mineralization as affected by soil cultivation and crop residue in a calcareous wetland ecosystem in Central Iran. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 112: 13-20.
۱۳. Raj, N., Shetty, N. and Shetty, H. 2004. Seed biopriming with *Pseudomonas fluorescens* strains enhances growth of pearl millet plants and induces resistance against downy mildew. *Integrated Journal of Pest Management* 50(1): 41-48.

Effect of Biopriming on the seedling growth factors of *Medicago sativa* L.

Elham Alijafari¹, Mehdi Moameri^{2*} and Meraj Sharari³

1- MSc Student in Science and Engineering Rangeland, University of Mohaghegh Ardabili

۲* - Assistant professor, University of Mohaghegh Ardabili

Email: moameri@uma.ac.ir

۳- Assistant professor, University of Mohaghegh Ardabili

Abstract

A completely randomized design with four replications was used to evaluate the effects of effective microorganism on germination and the growth factors of *Medicago sativa*. Experimental treatments consisted of EM1% and EM2%. In order to evaluate the effect of treatments on germination and the growth properties *M. sativa* were measured allometric coefficient (AC), root (RL) and shoot length (ShL), seedling wet weight (SWW), seedling dry weight (SDW), germination velocity (GV), germination percent (GP), vigor index (VI) and tissue water content (TWC). Results showed that the effect of treatments on GP, GV, VI, AC, SWW, RL and ShL was significant ($p < 0.01$). While, the effect of treatments on SDW and TWC was not significant. The results of this study can be useful in the seeds preparation of *Me. sativa* in the range improvement projects.

Keywords: *Medicago sativa*, effective microorganism, germination.